中華農業研究（Jour. agric. Res. China ）31(2)：137～143（1982）

蘆筍的細胞遺傳學研究

Ⅱ.人為誘致倍數體之研究[1]

陳　敏　祥[2]

摘要：本試驗之目的爲尋求蘆筍種子，以秋水仙素處理誘致四倍體之最佳處理濃度與時間，供蘆筍育種之參考。結果顯示，以發芽當天或第二天之種子處理爲佳，在 23～28°C 室溫下，四倍體之誘變率以 0.5%，15 小時處理者爲最佳。

成活之植株均經形態及細胞學上染色體數之觀察，以鑑別其爲二倍體、四倍體或混數體之植株。觀察 10 株混數體之植株中，有 6 株四倍體細胞數多於二倍體，4 株之四倍體細胞數少於二倍體之現象，此可能對蘆筍植物之進化過程有重要之關連。

同時進行不同性別品種（系）間親本不同花靑素雜交後代花靑素特性之調查，以便瞭解其後代遺傳關係，確立無花靑素品種（系），供日後無花靑素品種育種之參考。

蘆筍育種方面，有許多問題尙待研究與解決，如性染色體之研究與解明 (1,4,14) 、倍數體之誘致尤其是四倍體品種或品系之選育 (6,7,9,11) 、無花靑素品種（系）之確立 (1,4) 等，除了其本身直接具有應用與學術之價值外，且對純雄育種上具有直接與間接之應用與參考之價值。

有關蘆筍育成倍數體之研究報告甚少，如 Becker (8), Hunter & Danielsson (12), Janaki Ammal (Wellensiek, 1950) (13) 及高 (2) 等氏之研究報告，均只是簡短之記述而已；Braak & Zeli-inga (9) 針對誘變技術，處理種子數及獲得誘變數等曾加以研究，且證明 4 倍體之蘆筍較 2 倍體爲大，但却未確立優良 4 倍體之品系及其細胞學方面之觀察研究與解說。故本試驗擬將各種不同性別品種之雜交組合所獲得之一部分 F_1 種子，以秋水仙素用不同濃度，不同時間置於室溫下處理，以便尋求一簡便之蘆筍誘變處理方法。除植株形態鑑定外，並鑑定其染色體及其細胞學上之調查情形，找出蘆筍以秋水仙素誘致四倍體之適當濃度與處理時間，供今後蘆筍倍數性育種，育成無花靑素品種（系）與全雄育種之參考。

材料與方法

供試品種以 Connover's Colossal, Darbonne No. 4 及 Connover's Colossal F_1 等 3 品種中，不同性別間之雜交後代組合，計♀×☿之 31組合，♀×♂之12組合共 43組合 (4)，每組合逢機各取種子數粒不等，分別於 69 年 3 月17日至 4 月 16日間處理。供試藥品以西德 Merck公司出品之 1 gr. 裝之秋水仙素。

以 0.2 及 0.5%二種秋水仙素濃度 ，在一般室溫（23～28°C）下，分別以 15、24、48小時及一對照區進行處理。處理方法，採種子浸漬法，先將每一雜交組合50或 100 粒種子預播催芽於培養皿中

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第1041號。
2. 本所鳳山熱帶園藝試驗分所副研究員。臺灣省　高雄縣　鳳山市。

，選其發芽當天或第二天之種苗 [9] ，依上述之濃度與時間，分別將其浸漬於小試管內處理後，先播植於農友公司製之黑色塑膠花盆，其後部分移植於素燒盆內，一方面供特性鑑定、調查 [5] 、雜交及細胞學上染色體之鑑定，另一方面為準備移植田間觀察之用。

細胞學上染色體之觀察與鑑定依前報行之 [3,4,10,14] ，取新鮮根端，以0.002M 8—oxyquinoline 溶液前處理二小時後，以 Carnoy's 固定液固定之，用 IN-HCℓ60°C 加水分解 6 分鐘後，以Feülgen 溶液染色，鏡檢時以醋酸洋紅塗抹法染色製片觀察。

結果與討論

一、不同濃度秋水仙素處理種子誘變情形

因選其發芽之種子處理，故每一處理區分別為 35，64，56，34，69，63 及 59 (對照) 個等不同種子數。7 個處理區處理後之種子，經種植於塑膠盆後置於鳳試分所網室內，供行染色體及特性觀察。結果如表 1 及 2 所示。

(一) 處理濃度及時間對植株誘變之影響

表 1 顯示其成活率以 0.2%，15 小時之處理 60%為最高；0.2%，24 小時為 53.1%次之；而 0.5 %，48 小時之處理者僅佔 23.8 %最低。就其成活株數觀察其誘變情形，成為 4 倍體者之誘變率以 0.5%，15 小時之處理 100%最高；0.5%，24小時者 70.4%次之；而以 0.2%，處理 15 小時及 48 小時者為最低，同為 42.9%。除了 0.5%，15 小時之處理區外，其他各區均有混數體 (Mixoploids) 個體之出現，最高可達其成活植株數之 14.3%。一般而言，0.2 %之處理濃度其成活率較0.5%者

表1. 不同秋水仙素濃度及時間處理蘆筍種子誘變情形

Table 1. The mutagenic effect on germinating asparagus seeds by colchicine at different concentration and length of treatment.

秋水仙素處理 Colchicine treatment		處理種子數 Number of seeds treated	二倍體數 Number of diploid plants after treatment	誘變數 Number of tetraploid plants after treatment		死亡株數 Number of dead plants after treatment
濃度 concentration %	期間 period (hours)			4X	4X, 2X	
0.2	15	35	9	9	3	14(3)[a]
	24	64	12	19	3	30
	48	56	11	9	1	35(1)
0.5	15	34	0	11	0	23(1)
	24	69	7	19	1	42(1)
	48	63	3	10	2	48
control	48	59	47	0	0	12

a. ( ) Number of albino plants.

為高，但 0.2%誘變成 4 倍體之誘變率則較 0.5%者為低，而混數體個體數之出現則仍以 0.2%濃度處理者為多。由此可知，蘆筍發芽之第一天或第二天，其幼苗組織尚嫩，不能馬上承受較高濃度之秋水仙素處理，致枯死株數較多，而 0.2%低濃度之處理亦由於浸漬時間之長短，組織所承受程度亦異；相反的，組織能承受高濃度處理而成活者，誘變之機率就更大。

著者於本試驗進行之前，曾將蘆筍種子不經催芽按上述濃度即行秋水仙素處理，同樣的亦曾試行於其他小核果樹，均沒有獲得顯著之效果。Braak & Zeilinga [9] 氏曾就蘆筍種子直接以0.2、0.5、

表2. 秋水仙素處理蘆筍種子誘變結果

Table 2. The results of colchicine treatment on germinating asparagus seeds.

秋水仙素處理 Colchicine treatment		處理種子數	成活株數	成活率	誘變數 Number of tetraploid plants after treatment		誘變率 Percentage of tetraploid plants after treatment	
濃度 Concent-ration %	期間 period (hours)	Number of seeds treated	Number of plants survived	Percentage of plants survived (%)	4X	4X, 2X	4X (%)	4X, 2X (%)
0.2	15	35	21	60	9	3	42.9	14.3
	24	64	34	53.1	19	3	55.9	8.8
	48	56	21	37.5	9	1	42.9	4.8
0.5	15	34	11	32.4	11	0	100	0
	24	69	27	39.1	19	1	70.4	3.7
	48	63	15	23.8	10	2	66.7	13.3
control	48	59	47	79.7	0	0	0	0

1.0 及 1.5%之秋水仙素濃度，在 30°C 下處理 1，2，3 及 4 日之結果，從 36×16 個左右之種子中，僅得 6 株 4 倍體。又 Bassett 氏[7] 以秋水仙素處理單倍體倍加成 2 倍體時，發現蘆筍種苗如超過 2 週後，由於組織硬化，而不能誘變成 2 倍體；Becker 氏[8] 以 1 %秋水仙素濃度處理蘆筍幼苗結果，僅謂獲得變異個體；Hunter 氏等[12] 報告，從其處理後可得變異個體獲得之種子中，發現 4 倍體之 Co 植株；Janaki 氏[13] 以 1 %秋水仙素濃度處理蘆筍種子 3 日，獲得數株 4 倍體；Braak氏等[9] 曾就蘆筍種子發芽後，以 0.2～1.6% 等各種不同秋水仙素濃度，於 30°C 下以濾紙濕潤法處理 4～8 日，所得之結果以 0.8、1.2 及 1.6 %等高濃度下處理 5 日發芽之種苗爲最高（四倍體之誘變率分別爲 45.8、43.1 及 58.3%），其他均甚低（25%以下或 0 %），尤其以 0.2 及 0.5%濃度處理者，幾無 4 倍體之誘致。本試驗取發芽種子在 0.2% 與 0.5%秋水仙素之二種濃度，在15、24及48小時等三種時間之濫度條件下處理之結果，與 Braak 氏等之 0.8、1.2 及 1.6% 高濃度下處理 5 日發芽之種苗有相同，甚或更佳之誘變效果。

本試驗之誘變處理結果顯示，任何處理區之植株死亡率均高，除了誘變率最低之 0.2%，15小時處理者外，其他植株死亡率均在 50%～70 %左右，如何提高誘變率減少死亡率之研究，有待進一步之探討。

(二) 誘變植株形態與細胞學上之觀察

蘆筍之染色體數2n＝20（n＝10），其簡單之核型爲 6L＋4S，且發現 L_6— 染色體之長臂上有附隨體，較爲特殊[4]。本試驗爲配合無花青素品系育成之研究，大部分處理組合均以無花青素雜交組合爲主，誘變之植株初期生長受阻，幼葉變厚變短（圖 1），幼莖變粗（圖 2）；中期植株有的分株多或呈叢生狀，有的生長不良或枯死；而後期發育旺盛，漸次恢復正常生長，植株形態器官仍保持較厚大與 2 倍體有不同之特性。處理成活之植株經染色體數之觀察鑑定後如表 1 及表 2 所示，2 倍體染色體數 2n＝20（圖 3），4 倍體染色體數 2n＝40（圖 4），同時在誘變之 4 倍體體細胞分裂中期之染色體板上，明顯的觀察到 4 個具有 SAT— 染色體，此可能爲 L_6— 染色體[4]。另外有一部分植株觀察到其根端間或細胞間 2n＝20, 40 之染色體數之鑲嵌現象，其具有鑲嵌現象之植株以 0.2 %秋水仙素處理者爲多，本試驗觀察到之混數體共 10 株中，4 X細胞多於 2 X者有 6 株，而 2 X細胞多 4 X 者有 4 株，此種現象如果發生於自然界植物羣中，則可能成爲植物進化演進之重要因素之一。

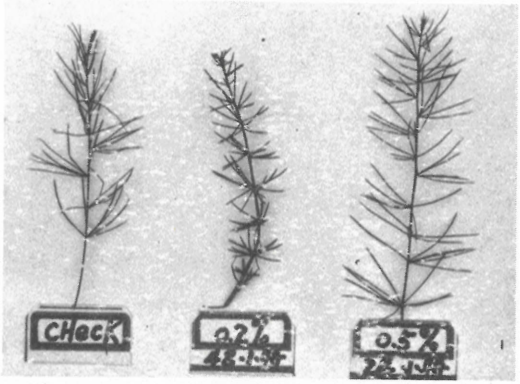

圖1. 蘆筍之幼葉，由左至右分別為2X, 4X 及 4X.

Fig. 1. Young asparagus shoots ; diploid (left), tetraploids (middle & right).

圖2. 蘆筍之幼株，由右至左分別為 4X, 4X（無花青素）及 2X.

Fig. 2. Young asparagus plants ; diploid (right; Ac), tetraploids (middle, Af & left, Ac).

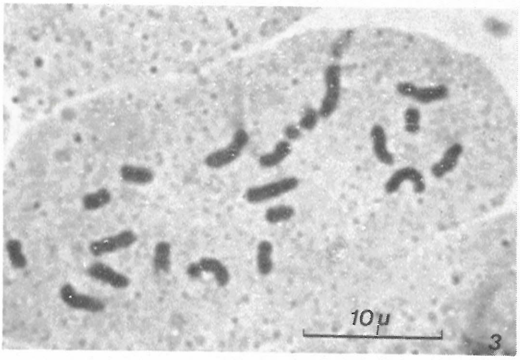

圖3. 蘆筍二倍體之染色體數。

Fig. 3. Diploid somatic metaphase with 2n =20 chromosomes.

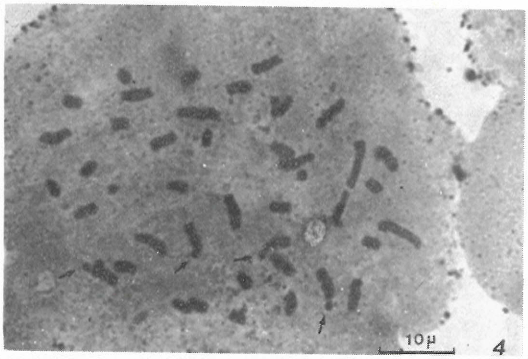

圖4. 蘆筍四倍體之染色體數，箭頭係指 SAT一染色體。

Fig. 4. Tetraploid somatic metaphase with 2n=40 chromosomes. The arrows indicate the SAT-chromosomes.

二、不同性別品種（系）間雜交後代花青素特性之調查

為配合無花青素品種（系）育成之研究，雜交親本以 Connover's colossal 為主，在多種雜交組合中獲得多量之雜交種子，播種後供為育種之材料[4]。本試驗將去年雜交之一部份種子做為誘變處理之材料（表1及表2），加以調查。其不同性別品種（系）間雜交及不同花青素之交配組合後代，含花青素（Ac）與不含花青素（Af）出現之結果如表3所示。由表3之調查結果可知：

1. Ac×Ac 之交配，不論以☿或♂性為父本，其後代花青素之出現均一，全為含花青素之植株。但其中以☿性株為父本6個組合中之3個組合，其 Af：Ac 分別為1：6，1：2及9：7者外，這三個組合之母本個體雖異，但為父本之☿性個體則為同一植株（78-B-55），是否具有其遺傳基因上之關係，或者其他人為因素等原因，仍有待重複之交配及進一步之探討。

2. Ac×Af 之交配，以☿性株為父本者其 Af：Ac 為1：2，以♂性株為父本者其比為1：3。Af×Ac 之交配，無論以☿性或♂性株為父本之交配，其 Af：Ac 均為2：1。

3. Af×Af 之交配，以☿性或♂性株為父本交配之結果相同，大約全為無花青素後代，可供為無花青素品種（系）育成之材料，將其因子導入栽培品種，確立無花青素品種，有待今後繼續雜交選育。其中有1個體為 Ac，此可能為親本本身純化關係或雜交種子變異，或因子突變所引起。

4.白苗之出現分別在 Ac×Ac, Ac×Af 及 Af×Af 等親本特性雜交組合上，根據著者調查統計分析之結果顯示，凡是後代出現白苗或白苗株數愈多者，該雜交組合後代之成活率愈低，尤其是 Af×Af 之交配，此可能是 Af 植株個體具有隱性致死因子所引起。至於 Ac×Ac 之交配中，某些雜交組合為何亦有白苗之出現，有待進一步之探討。此等現象容後再行詳述探討，並推測可能發生之原因。

表3. 不同性別品種（系）間雜交後代含與不含花青素出現之頻度

Table. 3. Segregation for anthocyanin-free (Af) and anthocyanin-containing (Ac) progenies after interbreeding between parents of different sexes.

交配組合 Combination[a]		調查組合數 Number of combinations	調查株數 Number of plants investigated	花青素 Anthocyanin 白 free	花青素 Anthocyanin 紫 containing	花青素 Anthocyanin 白苗 albino	死亡株數 Number of dead plants after treatment
♀×☿	Connover's Colossal F_1(791)						
	1) Ac×Ac	6	74	13	21	2	38[b]
	2) Ac×Af	5	42	4	8	2	28[b]
	3) Af×Ac	3	26	6	3	0	17
	4) Af×Af	5	40	13	1	2	24[b]
	Connover's Colossal F_1× Darbonne No. 4 (792)						
	1) Ac×Ac	7	36	0	11	0	25
	2) Af×Ac	5	15	6	3	0	6
♀×♂	Connover's Colossal F_1(793)						
	1) Ac×Ac	2	7	0	1	0	6
	2) Ac×Af	6	53	6	18	0	29
	3) Af×Ac	1	12	4	2	0	6
	4) Af×Af	3	16	6	1	0	9

a. Ac……anthocyanin-containing, Af……anthocyanin-free. *b*. including the albinos.

參 考 文 獻

1. 洪立・1978・蘆筍育種・臺灣區第二屆蘆筍學術討論會試驗研究報告・・133～154・國立中興大學編印。
2. 高琦瑛・1978・秋水仙素處理對蘆筍多倍體誘導效果之研究・臺灣區第二屆蘆筍學術討論會試驗研究報告：P11～13・國立中興大學編印。
3. 陳敏祥・1977・香蕉細胞學上之研究（1）染色體數之觀察・中國園藝23(5)：253～254。
4. 陳敏祥、沈再發，1980・蘆筍染色體的細胞學之研究（1）蘆筍之核型與雜交（初報）・臺灣蘆筍試驗研究報告 68：22～26。
5. 澤田英吉・1962・蘆筍・ 20～61・誠文堂新光社 東京。
6. Ammal, E. K. J. and B. L. Kaul. 1967. Cytomorphological studies in autotetraploid *Asparagus officinalis* L. Proc. Indian Acad. Sci. Sect. B 65(1)：1-9.
7. Bassett, M. J., R. J. Snyder and F. F. Angell. 1971. Efficient detection of asparagus monoploids for the production of colchiploid inbreds. Euphytica 20(2)：299-301.
8. Becker, C. L. 1938. Effect of colchicine on chromosome number and cell size in some horticultural plants. Minn. Acad. Sci., Proc. 6：26.
9. Braak, J. P. and A. E. Zeilinga. 1957. Production of a colchicine-induced tetraploid asparagus. Euphytica 6：201-212.
10. Darlington, C. D. and L. F. LA Cour. 1947. The handling of chromosomes. George Allen & Unwin Ltd., London.
11. Ellison, J. H. and E. S. Tiangco. 1970. Differentiating diploid from tetraploid seedlings of *Asparagus officinalis* L. Hort Scjence 5：173-174.
12. Hunter, A. W. S. and Danielsson, Berta. 1950. Induced polyploidy in horticultural crops. Centr. Exp. Farm, Ottawa, Progress Rep. 1934-1948：44.
13. Sneep, J. 1953. The significance of andromonoecy for the breeding of *Asparagus officinalis* L. - Euphytica 2：89-95, 224-228.
14. Zilm, B. 1966. Cytogenetic investigations on *Asparagus officinalis* L. having regard to their importance for breeding pure male and polyploid varieties. Z. Pflanzenzucht 56：1-26.

Cytogenetic studies on *Asparagus officinalis* L.

II. Studies on the artificially induced polyploid asparagus[1]

Min-syang Chen[2]

Summary

The objective of this experiment is to obtain tetraploid asparagus plants for breeding purpose. Tetraploid asparagus plant can be induced by treating the germinating asparagus seeds with colchicine. The best result obtained by treating germinating asparagus seeds, within 24 or 48 hours of germination, with 0.5% colchicine solution for 15 hours at 23-28°C.

Morphological and cytological examination of the asparagus plants showed that the survived colchicine-treated plants had three types, namely, diploids, tetraploids and mixoploids. Among the ten mixoploid plants examined, 6 plants showed more 4X cells while the other 4 plants had less than diploids. This may have played an important role in the evolution of asparagus plants.

In order to examine the inheritance nature of the anthocyanin-free characteristics of asparagus, the progenies of the cultivar Connover's Colossal were investigated. This could serve as a breeding tool for developing anthocyanin-free lines of asparagus cultivars.

---

1. Contribution No. 1041 from the Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Horticulturist and Head, Department of Tropical Fruits, Fengshan Tropical Horticultural Experiment Station, TARI, Fengshan, Kaohsiung Hsien, Taiwan 830, ROC.